



UNIVERSIDADE DO VALE DO TAQUARI – UNIVATES
CURSO DE ODONTOLOGIA

**INDUÇÃO DA CARCINOGENESE PELO 4NQO EM ESÔFAGO DE
RATOS: REVISÃO SISTEMÁTICA**

Paola Kollet Porto
Alessandro Menna Alves

Lajeado/RS, junho de 2023.

Paola Kollet Porto
Alessandro Menna Alves

INDUÇÃO DA CARCINOGENESE PELO 4NQO EM ESÔFAGO DE RATOS: REVISÃO SISTEMÁTICA

Trabalho de Conclusão de Curso II da estudante Paola Kollet Porto, do curso de Odontologia, da Universidade do Vale do Taquari – Univates, como requisito para obtenção de título de bacharelado em Odontologia.

Orientador: Dr. Alessandro Menna Alves

Lajeado/RS, junho de 2023

Paola Kollet Porto

**INDUÇÃO DA CARCINOGENESE PELO 4NQO EM ESÔFAGO
DE RATOS: REVISÃO SISTEMÁTICA**

A Banca examinadora abaixo aprova o Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia, da Universidade do Vale do Taquari - Univates, como parte da exigência para a obtenção do título de Bacharelado em Odontologia, na área de saúde.

Prof. Dr. Alessandro Menna Alves
Prof. Dr^a Carine Webber Pires
Prof. Dr. João Peixoto

Lajeado, junho de 2023

RESUMO: O câncer é um grave problema de saúde e o câncer de esôfago representa um dos mais frequentes do mundo e, por geralmente ser descoberto tardiamente, leva a uma expectativa de vida baixa ao longo de 5 anos. Por esse motivo, modelos experimentais em animais são necessários para o estudo das possíveis lesões, mecanismo de ação e ainda, se há semelhança àquelas encontradas em humanos. O 4NQO é um carcinógeno de fácil utilização, rápida indução e que tem se mostrado satisfatório em induzir carcinogênese. Portanto, este trabalho tem o objetivo de realizar uma revisão sistemática acerca do 4NQO como indutor de lesões malignas em esôfago. Para tal, foi realizada uma busca na literatura através das bases de dados digitais PubMed, Scielo e Scopus utilizando Esophageal Neoplasms OR Esophageal Cancer OR Esophageal Squamous Cell Carcinoma /AND/ 4-nitroquinoline 1-oxide OR 4NQO como descritores, a fim de encontrar os estudos referentes ao tema. Com base no exposto, foram encontrados 582 artigos que, após seleção por título, resumo e leitura completa, seguiram 13 para compor este artigo. Os estudos selecionados apontam que o 4NQO mostra-se eficaz ao induzir a carcinogênese esofágica em um curto período, com lesões semelhantes àquelas encontradas em humanos.

Palavras-chave: Neoplasias Esofágicas; Câncer de esôfago; Carcinoma de Células Escamosas; 1-óxido de 4-nitroquinolina.

ABSTRACT: Cancer is a serious health problem and esophageal cancer is one of the most frequent in the world and, because it is usually discovered late, it has a low life expectancy over 5 years. For this reason, experimental models in animals are the possible lesions, mechanism of action and also, if there is similarity to those found in humans. 4-NQO is an easy to use, fast inducing carcinogen that has been shown to be satisfactory in inducing carcinogenesis. Therefore, this work aims to carry out a systematic review about 4-NQO as an inducer of malignant lesions in the esophagus. To this end, a literature search was carried out through the digital databases PubMed, Scielo and Scopus using Esophageal Neoplasms OR Esophageal Cancer OR Esophageal Squamous Cell Carcinoma /AND/ 4-nitroquinoline 1-oxide OR 4-NQO as descriptors, in order to find the related studies to the theme. Based on the above, 582 articles were found which, after selection by title, abstract and full reading, followed 13 to compose this article. The selected studies indicate that 4-NQO is effective in inducing esophageal carcinogenesis in a short period, with lesions similar to those found in humans.

Keywords: Esophageal Neoplasms; Esophageal Cancer; Squamous Cell Carcinoma; 4-nitroquinoline 1-oxide.

INTRODUÇÃO

O câncer de esôfago representa, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o oitavo mais frequente no mundo, sendo o carcinoma de células escamosas o tipo mais comum, caracterizado como o mais fatal dentre as malignidades gastrointestinais, representando 5% das mortes por câncer (ZHAO *et al.*, 2021). Isso acontece pelo fato de ser detectado tardiamente ou quando já apresenta metástase (UHLENHOPP *et al.*, 2020). Por tratar-se de um câncer que possui baixa expectativa de sobrevivência ao longo de 5 anos, torna-se necessário entender melhor como ocorre o processo de carcinogênese e quais os fatores de risco para o seu desenvolvimento,

desta forma, novos métodos de prevenção e tratamentos poderão ser utilizados. (RIVERA, 2012)

Alguns fatores são sugeridos como causa para o carcinoma de células escamosas de esôfago dentre eles, hábitos como tabagismo e o consumo excessivo de álcool que elevam a possibilidade para o desenvolvimento de tal patologia, sendo assim, estabelecidos como os principais fatores de risco associados a esta condição. Além disso, o quadro de obesidade e o hábito de constante ingestão de bebidas excessivamente quentes, também são apontados como fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de esôfago. (UHLENHOPP, 2020, YUE, 2019)

Desta maneira, modelos experimentais em animais tornam-se importantes e vem sendo amplamente utilizados, tanto para o entendimento do processo e estágios da carcinogênese quanto para identificar agentes promotores e avaliar possíveis formas de intervenções terapêuticas. Isto posto, um carcinógeno bastante estudado é o 1-óxido de 4-nitroquinolina (4-NQO), que tem se mostrado satisfatório ao induzir carcinogênese em ratos e camundongos, além de possibilitar observar as características e estágios que antecedem o carcinoma propriamente dito. Ademais, estudos apontam que além da rápida indução, o 4-NQO continua o processo de indução mesmo após a interrupção de seu uso. (GAMA, 2014; YUE, 2019., SUR, 2018)

Devido a semelhanças fisiológicas e moleculares com lesões encontradas em humanos, modelos de estudos com camundongos são utilizados com a finalidade de observar as possíveis lesões e o tempo em que estas levam para se desenvolver, pois, essas lesões também mostram comportamento e efeitos semelhantes. Portanto, é necessário analisar a eficácia na indução de lesões pré-malignas e malignas no esôfago de modelos animais, para que novas estratégias sejam criadas a fim de inibir ou impedir o desenvolvimento dessas lesões, contribuindo na redução da incidência do câncer de esôfago. (ZHAO, 2020; SUR, 2018)

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática sobre a utilização do 4NQO como indutor de carcinogênese esofágica em modelo animal.

METODOLOGIA:

Foi realizada uma busca na literatura através das bases de dados PubMed, Scielo e Scopus a fim de obter os artigos publicados de maior relevância acerca do tema. Para tal, foi adotada a seguinte estratégia de busca: Esophageal Neoplasms OR Esophageal Cancer OR Esophageal Squamous Cell Carcinoma /AND/ 4 nitroquinoline 1 oxide OR 4NQO.

Do total de artigos encontrados nas bases de dados, foram exclusas duplicatas, e avaliados primeiramente os títulos, após os resumos e por fim, foi realizada leitura do texto completo. Foram incluídos apenas os trabalhos que usaram o 4NQO para indução de câncer no esôfago, utilizando modelos em ratos e, estudos in vitro, com humanos e artigos em que não seja possível acesso a sua versão completa, serão excluídos. Também serão excluídos artigos em línguas diferentes do inglês ou português.

Para a coleta de dados dos artigos, os autores utilizaram uma tabela contendo autor, ano, animais, dose, tempo de indução, tipo de lesão, tempo para formação da lesão e o objetivo dos artigos. As diferentes etapas de avaliação e seleção dos estudos foram realizadas de forma independente por dois autores (PKP e AMA). Nos casos de não concordância, os autores discutiram entre si de modo a chegar em um consenso. Os resultados estão apresentados na tabela 1.

RESULTADOS

Através das buscas nos bancos de dados Pubmed, Scielo e Scopus, foram encontrados inicialmente um total de 582 artigos que abrangeram os idiomas português e inglês e, após aplicados os critérios de inclusão e exclusão, foram selecionados 41 artigos para a leitura completa. Como serão apresentados resultados parciais, este trabalho contempla 13 artigos restantes da plataforma Scopus. (Figura 1)

Os artigos usados foram publicados entre os anos de 2004 e 2023. Estes, em sua maioria, são estudos pré-clínicos e todos eles utilizaram o 4NQO como carcinógeno de escolha para a indução da carcinogênese esofágica a fim de investigar e induzir lesões para posterior tratamento. Dos artigos selecionados, os 13 demonstraram a eficácia do 4NQO como carcinógeno e 1 artigo indicou o efeito como dose dependente. O tempo de indução com o carcinógeno variou de 4 a 24 semanas, sendo 16 semanas o tempo mais utilizado. Após o período de indução, seguiu-se um tempo para observação entre 4 e 16 semanas, sendo assim, o tempo necessário para que se formassem lesões foi até 28 semanas.

A forma de administração, na maioria dos estudos, deu-se através da diluição na água potável em variadas concentrações que foram de 15 µg/ml até 100 µg/ml, sendo esta última a mais utilizada. Ainda, houve um único artigo que utilizou como metodologia a pintura de língua na concentração de 5 µg/ml, método que também demonstrou ser eficaz. Dentre os 13 artigos incluídos, foi possível observar no esôfago diferentes lesões, tais como, hiperplasia epitelial, displasias de baixo e alto grau, papiloma, carcinoma in situ, carcinoma espinocelular (CEC).

Figura1 – Fluxograma da seleção dos artigos.

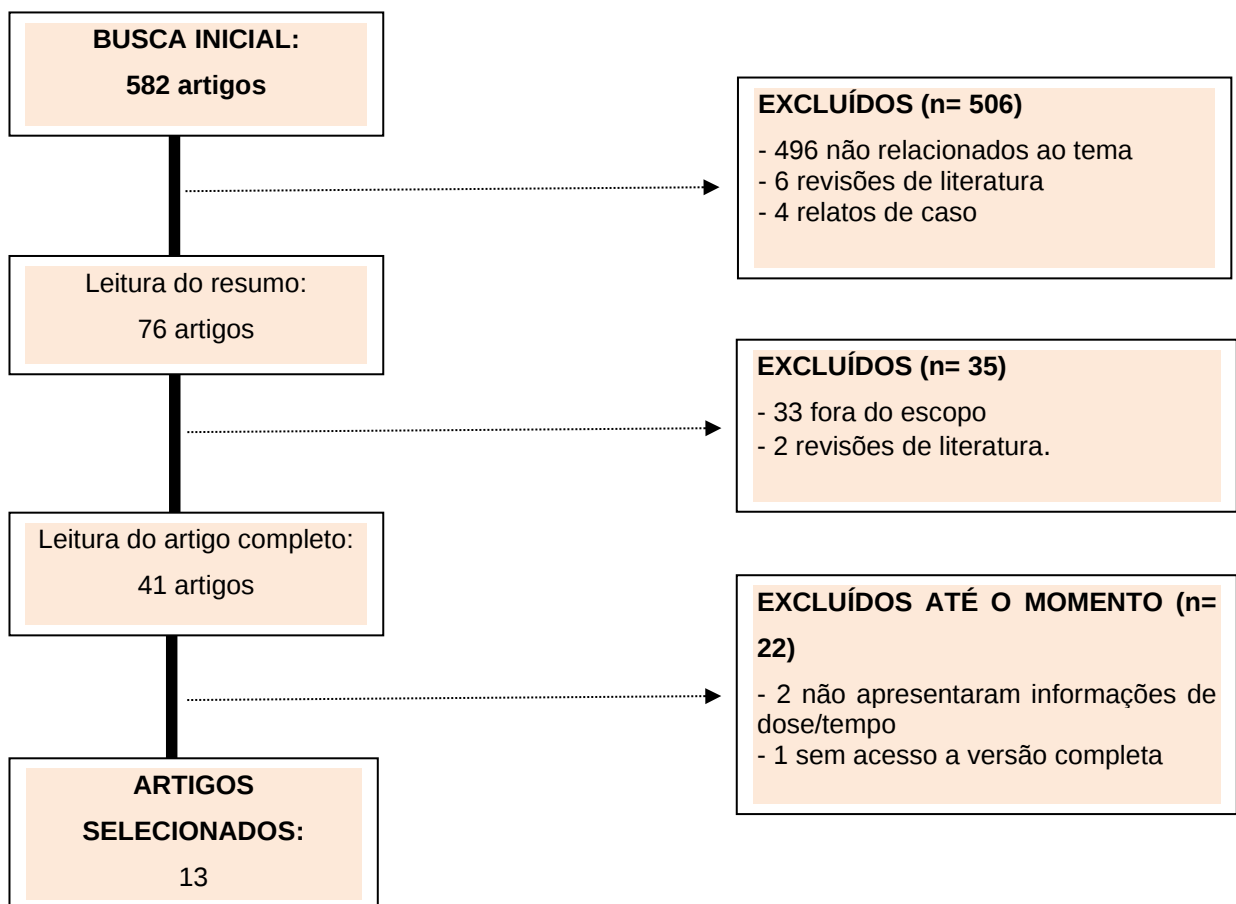


Tabela 1 - Artigos incluídos no trabalho

Autor/Ano/País	Número e tipo de rato	Dose	Tempo de indução	Tipo de lesão	Tempo para formar lesão	Avaliação/objetivo do artigo
P.-T. Chen; et al. 2015. China.	10 camundongos C57BL/6	100 µg/ml em água potável	16 semanas	Hiperplasia, papiloma e carcinoma invasivo	16 semanas + 14 semanas de observação	Avaliar o papel do calcitriol no CEC esôfago.
Z. Aziz; et al. 2023. Estados Unidos da América.	24 camundongos C57BL/6	100 µg/ml em água potável	8 e 16 semanas	Displasia e carcinoma	8 sem.: displasia e papiloma 16 sem.: displasia, papilomas e lesões invasivas	Criar sistema para pontuar e quantificar a gravidade do ESCC
Miyamoto, Shingo et al. 2008. Estados Unidos da América.	22 camundongos CB6F1-Tg Transgênicos	20 ppm em água potável	2, 4, 6 e 8 semanas e até a 24ª semana em espera.	Displasias, papiloma e CCE em língua e esôfago	24 semanas	Investigar a suscetibilidade da carcinogênese de língua, induzida por 4-NQO e, avaliar a capacidade quimiopreventiva da pitavastatina. Não era o objetivo avaliar esôfago e teve lesão
Yang, Zhengduo et al. 2013. Estados Unidos da América.	40 camundongos C57LB6/129Sv	Grupos com 15, 30 e 45 µg/ml em água potável	8 semanas + 16 semanas de espera	Displasia leve e severa, CEC em cavidade oral e esôfago. Número de lesões maior conforme dose.	24 semanas	Investigar a expressão dos genes críticos para o crescimento celular em tecidos de câncer oral e esofágico induzido por 4-NQO em camundongos em comparação com a doença em humanos.
Osei-Sarfo, Kwame et al. 2015. Estados Unidos da América.	80 camundongos C57BL/6	100 µg/ml em água potável	10 semanas + 11 observação	Hiperplasia e displasia de baixo e alto grau.	21 semanas	Identificar alvos prognósticos e medicamentosos para prevenção e tratamento do CCEE.
Zhou, Yan-Xia et al. 2019.	36 camundongos C57BL/6	100 µg/ml em água potável	16 semanas + 10 observação	Displasia, neoplasia e carcinoma in situ em	26 semanas	Avaliar o impacto do microbioma na tumorigênese, usando

Autor/Ano/País	Número e tipo de rato	Dose	Tempo de indução	Tipo de lesão	Tempo para formar lesão	Avaliação/objetivo do artigo
Estados Unidos da América.				cavidade oral e esofágica		camundongos livres de germes.
Tanaka, Takuji et al. 2017. Japão.	28 camundongos machos TSOD e 28 camundongos TSNO	20 ppm em água potável	20 semanas	Displasia, papiloma células escamosas e carcinoma de células escamoso invasivo, em língua e esôfago	28 semanas	Avaliar se a diabetes afeta a carcinogênese oral e esofágica
Tang, Xiao-Han et al. 2004. Estados Unidos da América.	65 camundongos BCA e C57BL/6	5 mg/ml em pintura de língua. 20, 50 e 100 µg/ml em água potável.	8 e 16 semanas + 12 de observação.	Displasias escamosas planas, tumores escamosos papilares exofíticos (papilomas) e carcinomas escamosos invasivos em cavidade oral e esôfago	8 a 28 semanas	Compreensão dos processos de carcinogênese para prevenção de carcinomas.
Ahsan, Anil et al. 2022. China.	30 camundongos C57BL/6	100 µg/ml em água potável	16 semanas + 4 de observação	Neoplasia intraepitelial de alto grau	20 semanas	Explorar e elucidar o mecanismo anticâncer do selênio
Wang, Ling et al. 2016. China.	60 camundongos C57BL/6	50 e 100 µg/ml em água potável.	15, 18, 21 e 24 semanas	Displasia e carcinoma	15, 18, 21 e 24 semanas	Definir o significado clínico e mecanismo em um microambiente tumoral investigando a expressão de B7-H3 e B7-H4 em tecidos de ESCC de esôfago humano e murino.
SAWANGARUN W, et al. 2018. Estados Unidos da América.	camundongos CD-1	50 µg/ml em água potável	8 semanas + 8, 12 e 16 semanas de observação.	Displasias, lesões pré-malignas e CCE em língua e esôfago.	Displasias epiteliais e neoplasias intraepiteliais encontradas após 16 semanas e lesões pré-malignas e CCE 20 e 24 semanas após o	Esclarecer sobre a contribuição da sinalização Noch e a diminuição de Noch1 na carcinogênese oroesofágica.

Autor/Ano/País	Número e tipo de rato	Dose	Tempo de indução	Tipo de lesão	Tempo para formar lesão	Avaliação/objetivo do artigo
					início da indução.	
Mark, Regina et al. 2013. Alemanha.	40 camundongos C57BL/6	100 µg/ml em água potável	4 meses + 2-3 meses de observação	hiperplasia, papiloma e neoplasia em língua e esôfago	6 e 7 meses	Investigar se a sinalização RAGE está ligada à transformação neoplásica de queratinócitos no epitélio da mucosa do trato aerodigestivo superior.
Jing, Chao et al. 2021. China.	Camundongos BALB/c	50 µg/ml em água potável	16 semanas + 12 semanas de observação	Displasia e CCEE	28 semanas	Explorar a atividade antitumoral da Tiolutina(THL), o inibidor do PSMD14, como uma nova estratégia terapêutica no CCEE.

DISCUSSÃO

Neste trabalho, foram avaliados, através de revisão sistemática, modelos de carcinogênese química que tenham utilizado o 4NQO em animais. A observação destes estudos revelou que o 4NQO mostra-se um efetivo indutor de carcinogênese em esôfago, permitindo estudar iniciação e desenvolvimento de cânceres de esôfago. Além disso, revelou-se de rápida indução e com capacidade de alteração tecidual semelhante às lesões encontradas em humanos (SAWANGARUN, 2018).

Yang *et al.* (2013) em um estudo sobre alterações moleculares comparáveis no câncer oral e esofágico induzido por 4NQO em camundongos, observaram que é possível induzir lesões pré-malignas e malignas após 8 semanas de tratamento. Esse estudo utilizou três grupos experimentais que foram expostos ao 4NQO diluído em água potável nas concentrações de 15, 30 e 45 µg/ml, para que fosse possível estudar a indução através da exposição da língua e esôfago dos animais às diferentes concentrações do carcinógeno. Observaram que, em todas as diluições houve alterações teciduais como displasias e neoplasias em todos os tecidos expostos, incluindo o esôfago. O maior número de lesões foi visto na concentração de 30 µg/ml, não indicando correlação com a dose.

Tanaka *et al.* (2017) e Miyamoto *et al.* (2008), obtiveram ótimos resultados em seus estudos no que diz respeito ao desenvolvimento de lesões. Em ambos, a dose de 4NQO utilizada foi de 20 ppm (20 µg/ml), contudo, o tempo de indução com o carcinógeno difere entre eles, enquanto Tanaka *et al.* induziram por um período de 20 semanas Miyamoto *et al.* (2008) avaliaram a indução durante 2, 4, 6 e 8 semanas. Apesar das diferenças no tempo de indução, ambos obtiveram resultados similares demonstrando a incidência de displasia, papiloma e carcinoma de células escamosas, tanto em língua quanto em esôfago. Estes achados mostram que, apesar das diferenças de tempo, obtiveram o mesmo resultado quanto às lesões encontradas nos animais.

No estudo realizado por Osei-sarfo *et al.* (2015), foi utilizada a concentração de 100 µg/m do 4-NQO. O modelo experimental contou com um grupo de camundongos induzido apenas com carcinógeno e outro que teve o etanol acrescentado ao 4-NQO, ambos administrados na água de beber dos animais. Os resultados mostraram que o 4-NQO foi capaz de induzir lesões hiperplásicas e displasias de baixo grau no grupo induzido apenas por ele, enquanto significativas

displasias de alto grau foram encontradas no grupo 4-NQO/etanol. Observa-se que, o etanol aumentou a capacidade do desenvolvimento de alterações no epitélio esofágico além do número de lesões, em comparação ao outro grupo. Mesmo com uma dose maior, não foi observado carcinoma invasivo, porém segundo Yang *et al.* (2013), o desenvolvimento de displasia de alto grau esofágica pode ser considerado um indício da iniciação de um carcinoma de células escamosas de esôfago. Sendo assim, este estudo corrobora com os demais resultados ao demonstrar a efetividade do 4-NQO. Além disso, mostra que, nos modelos animais, também é possível avaliar o efeito de fatores potencializadores de carcinogênese como o álcool.

Z Aziz *et al.* (2023) induziram a carcinogênese utilizando de 100 µg/ml de 4-NQO em água potável, com tempos diferentes de 8 e 16 semanas. O estudo alcançou o sucesso ao induzir lesões nos diferentes tempos de indução, exibindo displasia e papiloma com 8 semanas e com 16 semanas foi possível observar além destas, carcinoma invasivo. Do mesmo modo, Jing, Chao *et al.* (2021) utilizaram 16 semanas, porém, com dosagem diferente (50 µg/ml) e seus resultados demonstram que, mesmo utilizando uma dose menor, o tempo foi suficiente para induzir displasia epitelial e carcinoma de células escamosas. Com base nesses estudos, observa-se que o tempo de indução teve maior relevância que a dose.

Tang, Xao- Han *et al.* (2014) em um estudo para compreender os processos de carcinogênese, avaliaram diferentes dosagem, tempo e métodos de indução do 4-NQO. O estudo contou com um grupo de camundongos que foi submetido a pintura de língua em com 0,5 mg/ml de carcinógeno e os demais, receberam o carcinógeno através da água potável nas seguintes divisões: um grupo de concentração 100 µg/ml por 16 semanas, enquanto os demais receberam doses de 100, 50 e 20 µg/ml por 8 semanas cada um. Seus resultados mostraram o desenvolvimento de displasias, hiperplasias, papilomas e carcinoma de células escamosas em todas as dosagens, metodologias e tempo, exceto na dose de 20 µg/ml que não foi capaz de desenvolver lesões no esôfago. Sendo assim, este estudo mostra certa dependência da dosagem e tempo além disso, demonstrou maior incidência quando tratados com o 4-NQO em água potável.

Wang, Ling *et al.* (2016) utilizaram 50 e 100 µg/ml de 4-NQO por 15, 18, 21 e 24 semanas. Ao analisarem o esôfago dos animais observaram displasia em ambas as doses com 15 e 18 semanas, porém um número maior de lesões foi encontrado naqueles induzidos com 100 µg/ml. Contudo, os animais que receberam o

carcinógeno por 21 e 24 semanas desenvolveram displasia e carcinoma de células escamosas tanto com 50 µg/ml quanto 100 µg/ml, demonstrando que a capacidade de desenvolver carcinogênese em esôfago apesar das diferentes dosagens. Corroborando com esses resultados, Sawangarunw, *et al.* (2018) mostraram outras possibilidades de tempo para induzir lesões semelhantes, com um período mínimo de 8 semanas.

Uma vez que o 4-NQO é um carcinógeno que também tem ação por contato, Mark, Regina (2013), foi capaz de induzir lesões de hiperplasia, displasia e neoplasia em língua e esôfago de camundongos tratados com 100 ug/ml de 4-NQO em água potável durante 4 meses seguidos por um período de observação de até 3 meses. Seu trabalho mostra que a mesma dose e tempo foram suficientes para induzir lesões em cavidade oral (língua, palato e gengiva) e esôfago e ressalta o fato de que o 4-NQO é capaz de induzir carcinogênese mesmo após a interrupção de seu uso.

P.-T. Chen; *et al.* (2015) e Zhou, Yang-Xia *et al.* (2019) obtiveram ótimos resultados em seus estudos com camundongos. Em ambos, o 4-NQO foi administrado na concentração de 100 µg/ml durante 16 semanas. Os resultados obtidos indicaram sua eficácia ao induzir lesões de hiperplasia, papiloma, carcinoma in situ e carcinoma invasivo no esôfago dos animais. Vale destacar que, com esta dose também foi possível observar lesões cancerígenas em cavidade oral, o que viabiliza não só o estudo da carcinogênese esofágica como também em cavidade oral, reforçando com os achados de Mark, Regina (2013).

Ahsan, Anil *et al.* (2022) em recente estudo para elucidar o mecanismo anticâncer do selênio, utilizaram o 4-NQO (100 ug/ml) na água potável dos camundongos por 16 semanas, a fim de induzir carcinoma em esôfago. A análise histopatológica revelou neoplasia intraepitelial de baixo e alto grau no esôfago dos animais. Além disso, Ahsan, Anil *et al.* (2022) também observaram que, as alterações histológicas encontradas no esôfago dos camundongos analisados, são semelhantes às aquelas observadas em humanos.

Por fim, após a análise dos artigos selecionados não foram encontradas informações a respeito do grau histológico dos carcinomas formados. Tal informação pode ser de grande relevância ao determinar um prognóstico uma vez que, um carcinoma bem diferenciado tende a crescer mais lentamente e ser mais parecido com o tecido de origem, porém, quando se trata de um carcinoma pouco diferenciado, suas

células não possuem características normais e sua disseminação se dá de forma mais agressiva. (TUSTUMI *et al.*, 2016)

CONCLUSÃO:

Com base nos artigos avaliados até o presente momento, o 1-óxido de 4-nitroquinolina mostra-se eficaz ao induzir carcinogênese esofágica em camundongos com no mínimo 8 semanas, quando empregadas doses entre 50 ug/ml e 100 ug/ml. Apresenta-se um excelente carcinógeno tanto por induzir lesões em pouco tempo quanto pela semelhança com as lesões encontradas em tecido humano. Além disso, foi possível observar que outros fatores são capazes de alterar a carcinogênese como por exemplo o álcool.

REFERÊNCIAS

- AHSAN, Anil; LIU, Zhiwei; SU, Ruibing; LIU, Chencai; LIAO, Xiaoqi; SU, Min. *Potential Chemotherapeutic Effect of Selenium for Improved Canceration of Esophageal Cancer*. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 10, p. 5509-5520, 14 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms23105509>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/10/5509>. Acesso em: 17 jun. 2023.
- AZIZ, Zaryab; WASHINGTON, Mary Kay; JACOBSE, Justin; CHOKSI, Yash. *A method for scoring 4-nitroquinoline 1-oxide-induced murine esophageal squamous neoplasia*. **Veterinary Pathology**, [S.L.], v. 60, n. 3, p. 384-393, 1 fev. 2023. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/03009858231151381>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10150265/>. Acesso em: 17 jun. 2023.
- CHEN, Ping-Tsung; HSIEH, Ching-Chuan; WU, Chun-Te; YEN, Tzu-Chen; LIN, Paul-Yang; CHEN, Wen-Cheng; CHEN, Miao-Fen. *1 α , 25-Dihydroxyvitamin D3 Inhibits Esophageal Squamous Cell Carcinoma Progression by Reducing IL6 Signaling*. **Molecular Cancer Therapeutics**. [S.L.], v. 14, n. 6, p. 1365-1375, 1 jun. 2015. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1535-7163.mct-14-0952>. Disponível em: <https://aacrjournals.org/mct/article/14/6/136591945/1-25-Dihydroxyvitamin-D3-Inhibits-Esophageal>. Acesso em: 17 jun. 2023
- GAMA, Ricardo R.; GIOVANINI, Alan; ROSA, Fernanda S.; OGATA, Daniel C.; OLIVEIRA, André Luiz V.; COSTA, Ana Flávia C.; TALINI, Carolina; FENIMAN, Denise; KAMEI, Douglas; JÚNIOR, Celso F.; COCO, Allan; CARVALHO, André L. *Chemopreventive effects of the polyunsaturated fatty acids omega-3 on the carcinogenesis process of the upper aerodigestive tract induced by 4-nitroquinoline-1-oxide in Swiss mice*. **Ecancermedicalscience**, V. 8 p.392, 2014; DOI:<https://doi.org/10.3332/ecancer.2014.392>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24605132/> Acesso em: 16 jun. 2023
- HAN, L.; GAO, Quan-Li; ZHOU, Xiu M. SHI, Chao; CHEN, Guan-Yu; YONG-PING, Canção, YAO, Yog J.; ZHAO, Yu-Miao; WEN, Xue-Yan; LIU, Shi-Lei; QI, Yuan-Ming; GAO, Yan-Feng. *Characterization of CD103+ CD8+ tissue-resident T cells in esophageal squamous cell carcinoma: may be tumor reactive and resurrected by anti-PD-1 blockade*. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 69, n. 8, p. 1493-1504, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02562-3> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00262-020-02562-3> Acesso em: 18 jun. 2023

JING, Chao; LI, Xingchen; ZHOU, Mengqian; ZHANG, Shengchi; LAI, Qingchuan; LIU, Dandan; YE, Beibei; LI, Linqi; WU, Yue; LI, Hong. *The PSMD14 inhibitor Thiolutin as a novel therapeutic approach for esophageal squamous cell carcinoma through facilitating SNAIL degradation*. **Theranostics**, [S.L.], v. 11, n. 12, p. 5847-5862, 3 abr. 2021. Ivyspring International Publisher.
<http://dx.doi.org/10.7150/thno.46109>. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8058732/>. Acesso em: 17 jun. 2023.

MARK, Regina. *The receptor for advanced glycation end products is dispensable in a mouse model of oral and esophageal carcinogenesis*. **Histology And Histopathology**, [S.L.], v. 12, n. 28, p. 1585-1594, dez. 2013. Sercriisma International [s.l.], <http://dx.doi.org/10.14670/HH-28.1585>. Acesso em: 17 jun. 2023

MIYAMOTO, Shingo; YASUI, Yumiko; KIM, Mihye; SUGIE, Shigeyuki; MURAKAMI, Akira; ISHIGAMORI-SUZUKI, Rikako; TANAKA, Takuji. *A novel rasH2 mouse carcinogenesis model that is highly susceptible to 4-NQO-induced tongue and esophageal carcinogenesis is useful for preclinical chemoprevention studies*. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 2, p. 418-426, 2008. Oxford University Press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgm225>. Disponível em:
<https://academic.oup.com/carcin/article/29/2/418/2526868?login=false> Acesso em: 16 jun. 2023

NAN, Peng; WANG, Ting; LI, Chunxiao; WONG, Jinsong; ZHANG, Jingyao; DOU, Na, ZHAN, Qimin; MA, Fei; WANG, Haijuan, QIAN, Haili. *MTA1 promotes tumorigenesis and development of esophageal squamous cell carcinoma via activating the EK/ERK/p90RSK signaling pathway*. **Carcinogenesis Integrative Cancer Research**, v. 41, n. 9, p. 1263-1272, 2020. DOI: 10.1093/carcin/bgz200. Disponível em: <https://academic.oup.com/carcin/article/41/9/1263/5648052> Acesso em: 16 jun. 2023

OLIVEIRA-BORGES, Elton C.; SILVA, Adriana F.; GRAÇAS, Amanda M.; MELO, Fabiano, F. S.; BARCELOS, Adler A.; MYIATA, Senji. *O câncer de esôfago: Uma revisão*. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações**. v. 13, n.1, p. 773-790, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v10i1.2471> Disponível em:
<http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/2471> Acesso em: 16 jun. 2023

OSEI-SARFO, Kwane, URVALEK, Alison M.; TANG Xiao-Han; SCOGNAMIGLIO Theresa; GUDAS, Lorraine J. *Initiation of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in a murine 4-nitroquinoline-1-oxide and alcohol carcinogenesis model*. **Oncotarget**, v. 6, n. 8, p. 6040, 2015. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3339>. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/article/3339/text/> Acesso em: 15 jun. 2023

RIVERA, César A. *4NQO Carcinogenesis: A Model of Oral Squamous Cell Carcinoma*. **International Journal of Morphology**. V. 30, n. 1. P. 309-314. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-95022012000100055>. Disponível em:
https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022012000100055 Acesso em: 15 jun. 2023

SAWANGARUN, Wanlada; MANDASARI, Masita; AIDA, Junko; MORITA, Kei-Ichi; KAYAMORI, Kou; IKEDA, Tohru; SAKAMOTO, Kei. *Loss of Notch1 predisposes oroesophageal epithelium to tumorigenesis*. **Experimental cell research**, v. 372, n. 2, p. 129-140, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.09.019>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001448271830987X> Acesso em: 17 jun. 2023

TANAKA, Takuji; KAWABATA, Kunihiro; SUGIE, Shigeyuki. *4-Nitroquinoline 1-Oxide-Induced Tongue and Esophagus Carcinogenesis in Obese and Diabetic TSOD Mice*. **World Journal of Oncology**. V 8. P. 97-104, 2017. DOI: <https://doi.org/10.14740/wjon1038w>. Disponível em: <https://www.wjon.org/index.php/wjon/article/view/1038> Acesso em: 17 jun. 2023

TANG, Xiao-Han; KNUDSEN, Beatrice; BEMIS, Debra; TICKOO, Satish; GUDAS, Lorraine J. *Oral cavity and esophageal carcinogenesis modeled in carcinogen-treated mice*. **Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research** vol. 10, n. 1, p. 301-313. 2004. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-0999-3 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14734483/> Acesso em: 17 jun. 2023

TUSTUMI, Francisco; KIMURA, Cintia Mayumi Sakurai; TAKEDA, Flavio Roberto; UEMA, Rodrigo Hideki; SALUM, Rubens Antônio Aissar; RIBEIRO-JUNIOR, Ulysses; CECCONELLO, Ivan. PROGNOSTIC FACTORS AND SURVIVAL ANALYSIS IN ESOPHAGEAL CARCINOMA. **Abcd. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, [S.L.], v. 29, n. 3, p. 138-141, set. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0102-6720201600030003>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abcd/a/dLzpj3CqPtqcjrNNKd8KJRG/?lang=en#>. Acesso em: 19 jun. 2023.

UHLENHOPP, Dustin J.; THEN, Eric Omar; SUNKARA, Tagore; GADUPUTI, Vinaya. *Epidemiology of esophageal cancer: update in global trends, etiology and risk factors*. **Clinical journal of gastroenterology**, v. 13, n. 6, p. 1010-1021. 2020. <https://doi.org/10.1007/s12328-020-01237-x>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32965635/> Acesso em: 17 jun. 2023

WANG, Ling; CAO, Na-Na; WANG, Shan; MAN, Hong-Wei; LI, Peng-Fei; SHAN, Bao-En. *Roles of coinhibitory molecules B7-H3 and B7-H4 in esophageal squamous cell carcinoma*. **Tumor Biology**, [S.L.], v. 37, n. 3, p. 2961-2971, 28 set. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-015-4132-5>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13277-015-4132-5>. Acesso em: 17 jun. 2023.

YANG, Zhengduo. *Comparable molecular alterations in 4-nitroquinoline 1-oxide-induced oral and esophageal cancer in mice and in human esophageal cancer, associated with poor prognosis of patients*. **In Vivo**, S.L., v. 27, n. 4, p. 473-84, ago. 2013. PMCID: PMC3849809. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23812217/>. Acesso em: 17 jun. 2023.

YUE, Grace G.; LI, Lin; LEE, Julia K.; KWOK, Hin-Fai; WONG, Eric C.; LI, Mingyue; FUNG, Kwok-Pui; YU, Jun; CHAN, Anthony W.; CHIU, Philip W. *Multiple modulatory*

*activities of Andrographis paniculata on immune responses and xenograft growth in esophageal cancer preclinical models. **Phytomedicine**, v. 60, p. 152886, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152886>. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S094471131930056X?](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S094471131930056X?via%3Dihub) Acesso em: 16 jun. 2023*

ZHAO, Lianmei; MA, Ming; WU, Hao; ZHANG, Cong; DAI, Suli; DONG, Pei; HUO, Bingjie; SHAN, Baoen. *P-Hydroxycinnamaldehyde slows the progression of 4NQO-induced oesophageal tumourigenesis via the RhoA-MAPK signaling pathway. **Molecular carcinogenesis**, v. 57, n. 10, p. 1319-1331, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29873419/>. Acesso em: 16 jun. 2023*

ZHENG, Daoshan; LI, Zhaoyu. *A sex-dimorphic mouse model of esophageal squamous cell carcinoma. **American journal of cancer research**, v. 9, n. 2, p. 429, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6405973> Acesso em: 16 jun. 2023*

ZHOU, Yan-Xia; FUENTES-CREOLLO, Gabriela; PONCE, Frank; LANGLEY, Sasha A.; JEN, Kuang-Yu; CELNIKER, Susan E.; MAO, Jian-Hua; SNIJDERS, Antoine M. *No difference in 4-nitroquinoline induced tumorigenesis between germ-free and colonized mice. **Molecular Carcinogenesis**, [S.L.], v. 58, n. 5, p. 627-632, 03 jan. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/mc.22972>. Disponível em: wileyonlinelibrary.com/journal/mc. Acesso em: 17 jun. 2023.*